



# ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ERVA-CIDREIRA E MANJERICÃO FRENTE A BACTÉRIAS DE CARNES BOVINAS

Luciana Cristina Lins de AQUINO\*

Gladslene Góes SANTOS\*

Rita de Cássia TRINDADE\*\*

José Antônio Barreto ALVES\*\*

Patricia Oliveira SANTOS\*\*

Péricles Barreto ALVES\*\*\*

Arie Fitzgerald BLANK\*\*\*\*

Luciana Marques de CARVALHO\*\*\*\*\*

■ **RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana, *in vitro*, dos óleos essenciais extraídos de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown e *Ocimum basilicum* frente a microrganismos isolados de carnes bovinas. Os óleos foram extraídos por hidrodestilação e caracterizados quanto à composição por cromatografia gasosa. A concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima dos óleos (CBM) foram determinadas pelo método de microplacas utilizando concentrações de óleos entre 0,39 e 25µg/mL. Foram utilizadas suspensões de diferentes cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. na concentração de  $0,5 \times 10^4$  UFC/mL. O óleo de *Lippia alba* N.E. Brown apresentou maior eficiência como agente bacteriostático e bactericida frente às diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. isoladas de carnes bovinas do que o óleo essencial de *Ocimum basilicum* (cultivar “Maria Bonita”), o qual foi mais efetivo frente às cepas de *Escherichia coli*. Além disto, os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana em concentrações muito menores do que as obtidas por outros pesquisadores.

■ **PALAVRAS-CHAVES:** *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown; *Ocimum basilicum*, microrganismos; agente bactericida; óleo essencial.

## INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são compostos voláteis naturais, caracterizados por um forte odor, produzidos por plantas aromáticas como metabólitos secundários e contém de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações. O grupo principal de compostos é constituído de terpenos e terpe-

nóides (geraniol, sabineno, timol, carvacrol e outros) e os outros constituintes de peso molecular mais baixo são compostos aromáticos e alifáticos (alcoóis, aldeídos, fenóis e outros). Os óleos essenciais são conhecidos pela fragrância e propriedades fungicidas, antivirais, bactericidas e medicinais e podem ser utilizados como antimicrobianos, analgésicos, sedativos e anti-inflamatório.<sup>3</sup>

O uso de óleos essenciais como agentes antimicrobianos naturais em produtos alimentares pode ser considerado como um adicional determinante para aumentar a segurança e a vida de prateleira dos alimentos.<sup>14, 32</sup> Alguns pesquisadores têm extraído óleos essenciais de várias plantas tais como: *Origanum vulgare* (orégano), *Thymus vulgaris* (Tomilho), *Cinnamomum zeylanicum* (Canela), *Lippia alba*, *Lippia alba* f. *intermedia* (Ervacidreira), *Ocimum basilicum* (manjerição) e *Salvia officinalis* (Sálvia), os quais têm demonstrado atividade antimicrobiana frente a vários microrganismos, por exemplo: *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusarium verticillioides*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis e outros.<sup>8,12,19,21,23,25,29</sup> Também têm sido identificados como agentes antimicrobianos alguns outros componentes de óleos essenciais, como carvacrol, timol, eugenol, terpineno, linalol e carvona.<sup>3,7,19,25</sup>

A planta *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é uma espécie originária da América do Sul e América Central, podendo também ser encontrada no Sul dos Estados Unidos (Flórida), Norte da Argentina, França, Austrália e Índia, pertencente à família Verbenaceae, conhecida popularmente como erva-cidreira-de-arbusto, erva-cidreira-brasileira, alecrim-selvagem, falsa-melissa ou sálvia-da-gripe,

\* Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Departamento de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Sergipe – UFS – 49100-000 – Aracaju – SE – Brasil. Email: aquinoluciana@hotmail.com.

\*\* Departamento de Morfologia – UFS – 49100-000 – Aracaju – SE – Brasil.

\*\*\* Departamento de Química – UFS – 49100-000 – Aracaju – SE – Brasil.

\*\*\*\* Departamento de Engenharia Agrônômica – UFS – 49100-000 – Aracaju – SE – Brasil.

\*\*\*\*\* Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros – Embrapa – 49100-000 – Aracaju – SE – Brasil.

conforme a região.<sup>17,18,26</sup> A composição do óleo essencial é variada e sugere a existência de quimiotipos de I a VII, que se diferenciam pela maior quantidade dos seguintes componentes: citral, linalol,  $\beta$ -cariofileno (I), tagetenona (II), limoneno e carvona (III), mirceno (IV),  $\gamma$ -terpineno (V), camphor (VI) e estragol (VII). O óleo de erva-cidreira apresenta atividade antibacteriana e antifúngica frente aos microrganismos, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* e *Candida krusei*, e propriedades antivirais e antiprotzoário frente à *Trichomonas vaginalis*. Dentre suas utilidades medicinais, destaca-se o uso como analgésico, calmante, sedativo, antiespasmódico, dentre outros.<sup>18</sup>

A planta *Ocimum basilicum* pertence à família Lamiaceae; é conhecida popularmente como manjerição e pode ser encontrada em várias regiões do mundo. Faz parte de um grupo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares de grande valor econômico, muito utilizada para diversos fins: ornamental, condimentar, medicinal, aromático, na indústria de perfumaria e de cosméticos. O óleo essencial extraído de várias partes da planta tem apresentado atividade antimicrobiana frente a bactérias, (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dentre outras).<sup>9,10,13,16,19,22</sup>

Atualmente tem sido crescente o número de consumidores que exigem produtos alimentícios com o menor teor possível de aditivos químicos, utilizados para retardar a deterioração microbiana dos produtos. Devido à toxicidade de alguns aditivos químicos, a Legislação tem exigido cada vez mais a diminuição dos teores destes nos alimentos, bem como alternativas para a comercialização de produtos naturais sem adição de conservantes. Neste contexto, os óleos essenciais provenientes de plantas merecem destaque, já que tem sido verificada a ação antimicrobiana destes contra patógenos causadores de doenças alimentares ou deteriorantes de alimentos.<sup>20</sup>

Baseado nisto, o presente estudo teve como finalidade investigar a atividade antimicrobiana, *in vitro*, dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown (erva-cidreira-brasileira) e *Ocimum basilicum* (manjerição) frente a bactérias isoladas de carnes bovinas comercializadas em feiras-livres da cidade de Aracaju/SE.

## MATERIAL E MÉTODOS

As cepas de *Escherichia coli* (24), *Staphylococcus aureus* (8) e *Salmonella* sp. (5) foram isoladas de 52 amostras de carnes bovinas provenientes de 27 feiras livres da cidade de Aracaju/Sergipe, de acordo com as metodologias descritas na Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o controle de produtos de origem animal e água.<sup>6</sup>

Os óleos essenciais foram obtidos a partir de plantas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown (erva-cidreira-brasileira - quimiotipo LA-57) e de *Ocimum basilicum* (manjerição-cultivar "Maria Bonita") cultivadas na Fazenda Experimental Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe,

município de São Cristóvão, resultantes de um programa de melhoramento genético. A extração dos óleos foi realizada através de hidrodestilação utilizando o aparelho do tipo "Clevenger" até que não fosse observada nenhuma condensação de óleo. O óleo foi separado da fase aquosa e armazenado em recipientes de vidro opaco, mantendo-se à temperatura de -20°C até o momento da utilização.

Os óleos foram analisados quanto à composição química através de cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massa, CG-EM (Shimadzu, modelo QP 5050A), utilizando as seguintes condições: coluna DB5 (30 cm de comprimento, diâmetro interno de 0,25mm, 25 $\mu$ m espessura do filme, contendo 5% de fenilmetilpolisilohexano), taxa de fluxo de gás hélio de 1mL/min, modo Split, razão 1:5, volume de injeção 0,5 $\mu$ L, temperaturas do injetor e fonte de íons de 250°C e 280°C, respectivamente. A temperatura foi programada de 80°C à 180°C, com aumento de 3°C/min, de 180°C à 300°C com aumento de 10°C/min, ao atingir a temperatura de 300°C, esta foi mantida durante 10min. A identificação dos constituintes dos óleos foi realizada com base nos índices de retenção<sup>1</sup> e por comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes nas bibliotecas do equipamento NIST107 e NIST21 utilizando um índice de similaridade de 80%.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown e *Ocimum basilicum* foi determinada através do método de microdiluição em caldo utilizando placas contendo 96 poços, segundo o protocolo estabelecido pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute),<sup>11</sup> onde foram determinadas a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM). Os óleos foram preparados em caldo Muller-Hilton acrescido de 0,1% de Mg<sup>2+</sup>, 0,2 % Ca<sup>2+</sup> e tween 80% nas concentrações de: 0,04 $\mu$ g/mL, 0,09 $\mu$ g/mL, 0,19 $\mu$ g/mL, 0,39 $\mu$ g/mL, 0,78 $\mu$ g/mL, 1,56 $\mu$ g/mL, 3,12 $\mu$ g/mL, 6,25 $\mu$ g/mL, 12,5 $\mu$ g/mL e 25 $\mu$ g/mL. Foram preparadas suspensões dos microrganismos em solução salina estéril na concentração de 0,5x10<sup>4</sup> UFC/mL.

A microplaca foi dividida em linhas de A a H e colunas de 1 a 12. O procedimento consistiu inicialmente em adicionar nas colunas de 1 a 12 da linha H, 200 $\mu$ L do meio de cultura Caldo Muller-Hilton para controle negativo e na coluna 12 das linhas de A a G, adicionou-se 200 $\mu$ L do óleo essencial (de erva-cidreira ou manjerição) nas diferentes concentrações para controle de esterilidade. Na coluna 11 das linhas de A a G foram colocados 200 $\mu$ L da suspensão de cada cepa microbiana. Nas colunas de 1 a 10 das linhas de A a G foram adicionados 100 $\mu$ L dos óleos essenciais nas referidas concentrações e 100 $\mu$ L da suspensão de microrganismo. As placas foram tampadas e em seguida incubadas a 37°C durante 24h. Os experimentos foram realizados em duplicata. A concentração inibitória mínima foi considerada a menor concentração de óleo onde não foi visualizado crescimento microbiano. A presença de turvação nos poços indicou crescimento microbiano e, portanto, que não houve atividade antimicrobiana.

Para determinar a concentração bactericida mínima, retirou-se 100µL de amostras dos poços onde não ocorreu crescimento microbiano visível e semeou-se em ágar Muller-Hinton incubando-se à temperatura de 36°C durante 24h. A CBM foi considerada como a menor concentração de óleo essencial na qual não houve crescimento dos microrganismos nas placas de Petri, ou seja, houve eliminação dos microrganismos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos de *Lippia alba* N.E. Brown e *Ocimum basilicum* (cultivar “Maria Bonita”) foram obtidos com rendimentos de 0,63mL/planta (teor de 0,88%) e 1,15mL/planta (teor de 4,84%), respectivamente. No óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (erva-cidreira) foram identificados 15 componentes, sendo obtidos em maiores quantidades os compostos limoneno (28,28%) e carvona (65,32%) (Tabela 1).

Os pesquisadores têm adquirido vários tipos de óleos de *Lippia alba*, variam em conteúdo e composição. Braga et al.<sup>5</sup> analisaram óleo de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (cultivada na fazenda experimental do departamento de produção de plantas da UNESP, SP) e obtiveram 49,30% de carvona e 27,50% de limoneno; neste trabalho, foi apresentado maior teor de carvona e valor similar de teor de limoneno. Pascual et al.<sup>25</sup> têm determinado em diferentes espécies de *Lippia* maiores quantidades de limoneno,

β-caryophylleno, *p*-cymeno, camphor, linalol, α-pineno e thymol. No caso do *Lippia alba* (Mill) N.E Brown foram identificados os quimiotipos citral e carvona. Oliveira et al.<sup>23</sup> analisaram óleo de *Lippia alba* (erva-cidreira) cultivado no Estado do Pará (Brasil) e encontraram na sua composição 15% de mirceno, 20,7% de geranial, 21% de hidrocarbonetos de monoterpenos, 51% de monoterpenos oxigenados e 12,5% de hidrocarbonetos sesquiterpenos e, para o óleo de *Lippia alba* f. *intermedia* (carmelitana), foram encontrados 40,1% de monoterpenos oxigenados, 12,2% de hidrocarbonetos sesquiterpenos e 12,9% de geranial. Shukla et al.<sup>31</sup> encontraram no óleo de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown, proveniente da Índia, como componentes mais abundantes o geranial (22,21%) e o neral (14,20%). A atividade antimicrobiana do óleo de *Lippia alba* é em parte atribuída a presença de limoneno, pois este tem demonstrado eficiência como inibidor do crescimento microbiano dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*.<sup>3</sup>

No óleo de *Ocimum basilicum* (manjerição) foram identificados 13 componentes sendo 71,88% de linalol e 13,66% de geraniol (Tabela 2). Pesquisadores como Opalchenova & Obreshkova<sup>24</sup> e Hussain et al.<sup>19</sup> encontraram teores de linalol no óleo de manjerição variando entre 54,9% e 60,6%. O elevado teor de linalol obtido no óleo utilizado neste trabalho foi atribuído ao programa de melhoramento genético realizado por Blank et al.<sup>4</sup> A atividade antimicrobiana do óleo essencial de manjerição tem sido associada

Tabela 1 – Constituintes químicos do óleo essencial de Erva-cidreira-brasileira (*Lippia. alba* N.E.Brown (quimiotipo LA-57)).

Composto	(%) Componentes	IR
Triciclono	0,14	916
Sabineno	0,03	968
Mirceno	0,48	987
Limoneno	28,28	1028
(Z)- β-Ocimeno	0,02	1035
(E)-β-Ocimeno	0,57	1045
Linalol	0,72	1100
Carvona	65,32	1244
Piperitona	0,57	1254
Piperitenona	0,04	1337
β-Bourboneno	0,32	1382
(E)-Cariofileno	0,21	1418
γ-Muuroleno	1,91	1480
γ-Cadineno	0,12	1514
E-Nerolidol	0,20	1561

IR= índice de retenção.

em parte à presença de elevadas quantidades do componente linalol. Os pesquisadores têm verificado que o óleo de manjerição e o composto linalol têm apresentado atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Aspergillus niger*.<sup>19</sup>

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown e *Ocimum basilicum* foi testada frente a 37 cepas bacterianas *Escherichia coli* (24), *Staphylococcus aureus* (8) e *Salmonella* sp. (5). O óleo de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown apresentou atividade antimicrobiana frente à 11 cepas de *Escherichia coli* (aproximadamente 46% do total de cepas testadas) (Tabela 3).

Para 8 cepas de *Escherichia coli*, os valores de CIM foram iguais aos valores de CBM (o óleo apresentou ação bacteriostática e bactericida), sendo que para 4 cepas a concentração de óleo foi de 6,25µg/mL e para 4 esta concentração foi de 12,5µg/mL. Para 3 cepas de *E. coli* o óleo apresentou ação bacteriostática na concentração mínima de 6,25µg/mL e ação bactericida na concentração mínima de 25µg/mL. Tais resultados revelaram que as cepas testadas possuem diferentes suscetibilidades em relação à ação antimicrobiana do óleo essencial.

Os valores de CIM encontrados neste trabalho foram muito menores do que os obtidos por Duarte et al.<sup>13</sup> e

Tabela 2 – Constituintes químicos do óleo essencial de Manjerição (*Ocimum basilicum*, cultivar “Maria Bonita”).

Composto	(%) Componentes	IR
Sabineno	0,14	970
β-Pineno	0,34	975
1,8 Cineol	5,37	1030
Linalol	71,88	1100
α-Terpineol	0,49	1194
Geraniol	13,66	1249
Acetato de isoborneol	0,23	1282
Acetato de geraniol	3,12	1376
β-Elemeno	0,22	1386
α-trans-Bergamoteno	1,67	1430
Germacreno D	0,50	1477
γ-Cadineno	0,49	1509
eπi-α-Cadinol	1,90	1638

IR= índice de retenção.

Tabela 3 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown (quimiotipo LA-57) frente a diferentes cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.

Microrganismo	Parâmetro de suscetibilidade	Concentrações de óleo essencial (µg/mL)						
		0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25
<i>Escherichia coli</i> (n=24)	CIM	0	0	0	0	7 (29,2%)	4 (16,7%)	0
	CBM	0	0	0	0	4 (16,7%)	4 (16,7%)	3 (12,5%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 8)	CIM	1 (12,5%)	2 (25%)	4 (50%)	1 (12,5%)	0	0	0
	CBM	1 (12,5%)	2 (25%)	4 (50%)	1 (12,5%)	0	0	0
<i>Salmonella</i> sp. (n=5)	CIM	0	0	0	0	4 (80%)	0	0
	CBM	0	0	0	0	2 (40%)	0	0

n= número de cepas testadas.



Tabela 4 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Ocimum basilicum* frente a diferentes cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.

Microrganismo	Parâmetro de suscetibilidade	Concentrações de óleo essencial (µg/mL)				
		1,56	3,12	6,25	12,5	25
<i>Escherichia coli</i> (n=24)	CIM	3 (12,5%)	10 (41,6%)	7 (29,2%)	4 (16,6%)	0
	CBM	0	0	20 (83,3%)	2 (8,3%)	2 (8,3%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 8)	CIM	1 (12,5%)	6 (75%)	0	1 (12,5%)	0
	CBM	1 (12,5%)	1 (12,5%)	5 (62,5%)	1 (12,5%)	0
<i>Salmonella</i> sp. (n=5)	CIM	0	1 (20%)	0	0	0
	CBM	0	0	0	0	0

n= número de cepas.

Pessini et al.,<sup>27</sup> que avaliaram a suscetibilidade de agentes bacterianos frente ao óleo essencial de *L. alba* (Mill) N. E. Brown, tendo obtido para diferentes cepas de *Escherichia coli* CIMs variando entre 400 e > 1000µg/mL. Por outro lado, Aguiar et al.<sup>2</sup> não detectaram atividade antimicrobiana de extratos brutos de raízes de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown frente a *Escherichia coli*.

Em relação ao *Staphylococcus aureus*, o óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown demonstrou atividade antimicrobiana frente a todas as cepas testadas. O óleo essencial apresentou ação bacteriostática e ao mesmo tempo bactericida nas concentrações de 0,39µg/mL, 0,78µg/mL e 1,56µg/mL (ou seja valores iguais de CIM e CBM), sendo a maioria das cepas (4) inativadas na concentração de 1,56 µg/mL. As CIMs obtidas neste trabalho foram muito menores do que as de Sena Filho et al.,<sup>30</sup> Pessini et al.,<sup>27</sup> Aguiar et al.<sup>2</sup> e Hennebele et al.,<sup>18</sup> os quais revelaram CIMs entre 500 a 2000µg/mL.

Em relação à *Salmonella* sp., o óleo essencial de *Lippia alba* apresentou atividade antimicrobiana em 4 das 5 testadas; para 2 cepas o óleo essencial apresentou ação bacteriostática e bactericida na concentração mínima de 6,25µg/mL e para 2 cepas, nesta mesma concentração, o óleo essencial apresentou apenas ação bacteriostática.

Além dos microrganismos testados neste trabalho, a literatura relata que o óleo de *Lippia alba* N.E. Brown apresenta eficiência como antimicrobiano frente a outros microrganismos, como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium* sp., *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* e *Lactobacillus casei*.<sup>13,15,18,23,31</sup>

O óleo de *Ocimum basilicum* apresentou ação bacteriostática e bactericida frente a todas as cepas de *Escherichia coli* testadas (Tabela 4).

A maioria das cepas foi inibida (10) e morta (20) nas concentrações de 3,12 e 6,25µg/mL, respectivamente. Do

total de 24 cepas testadas, o óleo essencial de manjeriço apresentou ação bacteriostática e ao mesmo tempo bactericida em concentrações de 6,25 e 12,5µg/mL, para 7 e 2 cepas, respectivamente. As CIMs determinadas neste trabalho para o óleo de manjeriço foram muito menores do que as obtidas por Duarte et al.,<sup>13</sup> Hussain et al.<sup>19</sup> e Runyoro et al.,<sup>28</sup> cujas CIMs para diferentes sorotipos de *Escherichia coli* variaram entre 200 e 12500µg/mL.

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* também apresentou ação bacteriostática e bactericida frente a todas as cepas *Staphylococcus aureus* testadas. Das 8 cepas analisadas, 5 foram inibidas e mortas com CIMs e CBMs de 3,12 e 6,25µg/mL, respectivamente. As CIMs encontradas neste trabalho foram muito menores do que as obtidas por Hussain et al.<sup>19</sup> e Runyoro et al.,<sup>28</sup> em que as concentrações inibitórias mínimas de óleo essencial de manjeriço frente ao *Staphylococcus aureus* variaram entre 900 e 3140 µg/mL. Em relação à *Salmonella* sp. o óleo essencial de *Ocimum basilicum* apresentou apenas ação bacteriostática na concentração mínima de 3,12 µg/mL para 1 cepa do microrganismo.

Além destes, o óleo essencial de manjeriço também tem apresentado forte atividade antimicrobiana frente a outros microrganismos - *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Listeria monocytogenes*,<sup>9,13,16,19</sup> - o que comprova o potencial de utilização deste óleo como agente antimicrobiano natural para aplicações futuras em alimentos.

## CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Lippia alba* N.E. Brown (quimiotipo LA57) apresentou maior eficiência como agente bacteriostático e bactericida frente a *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. isoladas de carnes bovinas provenientes de feiras livres do que o óleo de *Ocimum basilicum* (cultivar “Maria Bonita”), o qual foi mais efetivo frente às cepas de

*Escherichia coli*. Foi verificado que os óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço, obtidos de plantas resultantes de um programa de melhoramento genético, são efetivos como agentes antimicrobianos frente aos microrganismos de carnes bovinas em concentrações muito menores do que as obtidas por outros pesquisadores. A partir destes resultados, podem ser realizadas pesquisas futuras visando a aplicação destes óleos em embalagens ativas ou como aditivos nas carnes, sendo necessário avaliar as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do produto para obter a aceitação pelos consumidores.

AQUINO, L. C. L.; SANTOS, G. G.; TRINDADE, R. C.; ALVES, J. A. B.; SANTOS, P. O.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; CARVALHO, L. M. Antimicrobial activity of essential oils of cidreira-herb and basil against bacteria from bovine meat. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 529-535, out.dez. 2010.

■**ABSTRACT:** The aim of this work is to evaluate, in vitro, the antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown and *Ocimum basilicum* against microorganisms isolated from beef. The oils were extracted by hydrodistillation and analyzed for composition by gas chromatography. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration of oil (MBC) were determined by the microplate method using oils concentrations between 0.39 and 25µg/mL. The suspensions of different strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. at 0.5 x10<sup>4</sup> CFU /mL. The essential oil of *Lippia alba* NE Brown was more efficient as bacteriostatic and bactericidal agent against the different strains of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp., isolated from bovine meat, than essential oil of *Ocimum basilicum* (cultivar “Maria Bonita”), which was more effective against the strains of *Escherichia coli*. Moreover, the essential oils showed antibacterial activity significantly more effective than those obtained by other researchers.

■**KEYWORDS:** *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown; *Ocimum basilicum*; microorganisms; bactericidal agent; essential oil.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publ., 1995. p. 456.
- AGUIAR, J. S.; COSTA, C. C. D. M.; NASCIMENTO, S. C.; SENA, K. X. F. R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, n. 3, p. 436-440, 2008.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BLANK, A. F. et al. Maria Bonita: cultivar de manjeriço tipo linalol. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 42, n. 12, p. 1811-1813, 2007.
- BRAGA, M. E. M. et al. Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. **J. Supercrit. Fluids**, v. 34, p. 149-156, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 04.
- BURT, S. Essential oils their antibacterial properties and potencial applications in foods: a review. **Int. J. Food Microbiol.** v. 94, p. 223-253, 2004.
- BUSATTA, C. et al. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in Sausage. **Braz. J. Microbiol.**, v. 38, p. 610-616, 2007.
- CAROVIC-STANKO, K. et al. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chem.**, v. 119, p. 196-201, 2010.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, p. 24-30, 2006.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactérias de crescimento aeróbico**: norma aprovada sexta edição – M7 – A6. Pennsylvania, 2005. v. 23, n. 2.
- DAMBOLENA, J. S. et al. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 11, n. 2, p. 410-414, 2010.
- DUARTE, M. C. T. et al. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 111, p. 197-201, 2007.
- EBRAHIMI, S. N. et al. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus carchedonicus* at different phenological stages. **Food Chem.**, v. 110, p. 927-931, 2008.
- GRAEBIN, C. S. et al. The use of Limonene and Limonene Oxide as building-block for Solid- Phase Combinatorial Synthesis (SPCS). In: BRAZILIAN SIMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY, 2, 2004, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Química, 2004. p.1.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **Intern. J. Food Microbiol.**, v. 124, p. 91-97, 2008.

17. HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. C. Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de Fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (verbenaceae). **Saúde**, v. 33, n 1, p 43-48, 2007.
18. HENNEBELLE, T. et al. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 116, p. 211-222, 2008.
19. HUSSAIN, A. I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chem.**, v. 108, p. 986-995, 2008.
20. KOTZEKIDOU, P.; GIANNAKIDIS, P.; BOULAMATIS, A. Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. **LWT**, v. 41, p. 119-127, 2008.
21. MUNÕZ, M. et al. Determination of the effect of plant essential oils obtained by supercritical fluid extraction on the growth and viability of *Listeria monocytogenes* in broth and food systems using flow cytometry. **LWT**, v. 42, p. 220-227, 2009.
22. NEDOROSTOVA, L. et al. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. **Food Control**, v. 20, p. 157-160, 2009.
23. OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná. **Braz. J. Ethnopharmacol.**, v. 108, p. 103-108, 2006.
24. OPALCHENOVA, G.; OBRESHKOVA, D. Comparative studies on the activity of basil - an essential oil from *Ocimum basilicum* L. - against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. **J. Microbiol. Methods**, v. 54, p. 105-110, 2003.
25. PASCUAL, M. E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **J. Ethnopharmacol.**, v. 76, p. 201-214, 2001.
26. PAULETTI, G. et al. Variabilidade química em *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (VERBENACEAE) no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3, 2005. **Anais...** Campinas: IAC, 2005. p.149.
27. PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 13, p. 21-24, 2003.
28. RUNYORO, D. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. **Food Chem.**, v. 119, p. 311-316, 2010.
29. SANTURIO, J. M. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Cienc. Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.
30. SENA FILHO, J. G. et al. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 4, p. 506-509, 2006.
31. SHUKLA, R. et al. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 135, p. 165-170, 2009.
32. SKANDAMIS, P.; TSIGARIDA, E.; NYCHAS, G.-J. E The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* meat stored at 51°C under aerobic, VP/MAP conditions. **Food Microbiol.**, v. 19, p. 97-103, 2002.

Recebido em: 03/08/2010

Aprovado em: 16/11/2010